FRACTIONNEMENT DES ACIDES HUMIQUES DU SOL PAR ELECTROPHORESE CONTINUE SUR PAPIER FIBRES DE VERRE

P. BOTTNER

avec la collaboration technique de Mlle F. JEGOU
Laboratoire d'Eco-Pédologie et de Microbiologie du Sol
du Centre d'Etudes Phytosociologiques et Ecologiques (*)

SOMMAIRE

Les acides humiques d'un mor de podzol humo-ferrugineux et d'un mull de sol brun calcaire sont soumis à l'électrophorèse continue *sur papier cellulose et sur papier fibres de verre.*

Sur papier cellulose, la migration des composés humiques permet de dissocier les « acides humiques mobiles » des « acides humiques immobiles ». Les composés mobiles sont facilement élués ; une partie des composés immobiles par contre, n'est plus éluable, elle reste fixée sur le papier cellulose, il ne s'agit non d'une précipitation, mais vraisemblablement d'une adsorption.

Sur papier fibres de verre, l'ensemble des fractions est élué aisément. Mais on constate sur ce type de support une migration à la fois vers l'anode et vers la cathode.

Chaque fraction qui a été séparée sur papier fibres de verre, est caractérisée par sa couleur, son coefficient d'adsorption lumineuse et sa mobilité à l'électrophorèse classique sur bandes de papier cellulose. On constate les faits suivants : les fractions qui, sur fibres de verre, migrent vers l'anode, sont comparables aux « acides humiques mobiles » sur cellulose ; celles qui, sur verre, migrent vers la cathode sont comparables aux « acides humiques immobiles » sur cellulose.

La technique de fractionnement des acides humiques du sol par électrophorèse sur bandes de papier cellulose est utilisée couramment par beaucoup d'auteurs. Elle permet de caractériser les acides humiques du sol et de les fractionner en « acides humiques immobiles, mobiles et intermédiaires » (DUCHAUFOUR et al., 1966). Ses possibilités sont cependant limitées, en ce sens que l'élution des fractions séparées est incomplète et donne des quantités de composés humiques trop faibles pour permettre une détermination physico-chimique valable des constituants.

Ceci a mené certains auteurs à séparer les composés humiques par **électrophorèse continue,** dont voici le principe. Par une micropompe, les acides humiques sont déposés d'une manière lente et continue sur une feuille de papier disposée verticalement. Dans les capillaires de celle-ci circule du haut en bas une solution tampon. Une différence de potentiel appliquée de part et d'autre de la feuille, donc perpen-

(*) B.P. 1018, 34 - Montpellier, France.

diculairement à la circulation de la solution tamponnée, permet la séparation par électrophorèse des constituants des acides humiques. Les fractions séparées sont entraînées par le tampon et recueillies à la base de la feuille de papier dans des tubes collecteurs. Cette technique est encore appelée électrophorèse verticale, par opposition à l'électrophorèse horizontale sur bandes.

Différents auteurs ont fait appel à cette technique : TIELE et al (1953), JOHNSTON (1959), SCHEFFER et al (1959), MUCKE et al (1960), POSPISIL (1961). Tous ont utilisé le papier cellulose comme support de l'électrophorèse. Or, il s'avère qu'avec ce type de papier et aux concentrations de tampon habituellement utilisées, l'élution complète des fractions qui contiennent les composés humiques les plus polymérisés est rendue difficile par l'adsorption ou la précipitation des molécules sur le papier (SCHEFFER et al., 1955). Pour pallier à cet inconvénient, nous avons remplacé le papier cellulose par du papier de fibres de verre dont le pouvoir d'adsorption est extrêmement réduit (LEDERER, 1959).

Le but du présent article est de présenter les résultats obtenus.

I. — MATERIEL D'ETUDE.

Deux types de sols ont été utilisés.

1° Un mull calcique d'un horizon A_1 de sol brun calcaire développé sur terra-rossa, sous pelouse à **Brachipodium ramosum ;** 4 % de matière organique ; C/N 10 ; pH 8,1 ; 2,3 % de calcaire actif.

2° Un mor d'un horizon Ao de podzol humo-ferrugineux développé sur sable éolien, sous **Pinus laricio** et **Calluna vulgaris ;** 68,4 % de matière organique ; C/N 26,7 ; pH 3,7 ; complexe absorbant saturé à 19 %.

II. — MODE OPERATOIRE.

La matière organique est mise en solution par trois extractions successives : deux avec $Na_4P_2O_7$ M/10 suivie d'une autre avec NaOH N/10. Les trois extraits sont mélangés puis immédiatement précipités à pH 1 par HCl concentré. Les acides humiques sont centrifugés, lavés une première fois avec HCl N/100, une deuxième fois avec HCl N/200 et enfin redissouts avec un minimum de NaOH N/10.

Les argiles et les composés humiques insolubles sont éliminés par plusieurs centrifugations à 3.500 tours/minute. La séparation par électrophorèse continue est exécutée sur le Collectophor PLEUGER. La dépose est effectuée sur la position centrale de l'appareil afin d'éviter les zones de perturbation au voisinage des électrodes (AUDUBERT et al., 1957). La séparation dure 48 heures. Chaque tube collecteur contient alors 20 à 30 cm^3 de solution tampon avec la fraction de matière organique correspondante.

III. — RESULTATS OBENUS.

La séparation a été effectuée sur papier cellulose, puis sur papier fibres de verre.

A. — SUR PAPIER CELLULOSE.

Les papiers utilisés ont été les suivants :

— papier Schleicher et Schüll n° 2316 et n° 2040b,

— papier Whatmann n°s 1 et 2.

Les tampons suivants ont été expérimentés : NaH_2PO_4 — NaOH à pH 7,4 (Clark-Lubs), $Na_2B_4O_7$ — HCl à pH 9,0 (Sörensen), Véronal — HCl à pH 7,4 (Michaelis).

Influence du papier.

Sur les quatre types de papier utilisés et en présence du tampon de Clark-Lubs, on observe un fractionnement des acides humiques déposés, identique à celui obtenu par l'électrophorèse classique, sur bandes de papier cellulose. On constate en effet :

1° qu'il y a migration uniquement vers l'anode,

2° que les fractions séparées peuvent être regroupées en trois parties distinctes.

Du niveau de la dépose vers l'anode, on observe en effet :

— un groupe de composés immobiles d'une coloration foncée intense,
— un groupe de composés mobiles de couleur brune qui migre vers l'anode,
— un groupe de composés très mobiles, incolores ou faiblement colorés en jaune à la lumière naturelle, et fluorescents à la lumière de Wood. Ils précèdent vers l'anode les fractions mobiles de couleur brune.

Les deux derniers groupes mobiles dans le champ électrique sont en même temps entraînés vers les tubes collecteurs, grâce à la circulation de la solution tampon. Ils sont donc facilement récupérables. Il n'en est pas de même des fractions immobiles. Elles ne migrent pas sous l'action du champ électrique. Par ailleurs, leur entraînement par le courant du tampon est incomplet. Les acides humiques immobiles ne sont donc pas élués et récupérables en totalité dans les tubes collecteurs. C'est là l'inconvénient de l'utilisation du papier cellulose dans cette technique. Deux hypothèses permettent d'expliquer l'immobilité de cette fraction vis-à-vis du courant de la solution tampon :

— une précipitation des grosses molécules sous l'action d'une concentration électrolytique trop élevée du tampon,
— une fixation des molécules sur la cellulose.

Ces observations ont été faites sur les quatre types de papier utilisés.

Influence du tampon.

L'effet des différentes solutions tamponnées a été étudié sur papier Whatmann n° 1. Il s'avère que pour les factions qui dans le champ électrique sont immobiles, l'élution reste toujours incomplète quel que soit le type de tampon utilisé. Afin d'éviter une éventuelle précipitation des acides humiques non éluables sous l'action d'une concentration ionique trop élevée des solutions tamponnées, celle au phosphate et celle au véronal ont été diluées au 1/2 (SCHEFFER et al., 1955). L'élution restait encore incomplète.

Conclusion.

L'utilisation du papier cellulose dans le fractionnement des acides humiques par électrophorèse continue avec les tampons et à la tension utilisés, permet le fractionnement de trois groupes de composés mobiles dans le champ électrique. Mais **l'élution complète du groupe de fractions qui sont immobiles dans le champ électrique n'a pas été réalisé.** Il s'agit vraisemblablement non d'une précipitation des acides humiques mais d'une fixation (peut-être d'une adsorption). Afin d'éviter cet inconvénient, nous avons alors utilisé du papier fibres de verre.

B. — **SUR PAPIER FIBRES DE VERRE.**

Deux types de papiers ont été expérimentés :

Whatmann G.F. 81 à mailles grossières, et Whatmann G.F. 83 à mailles fines. Sur le premier, la migration est irrégulière. L'utilisation de G.F. 83 est préférable.

Les tampons utilisés étaient : celui au NaH_2PO_4 — NaOH à pH 7,4, celui au véronal NaOH à pH 7,4, dilué au 1/2.

L'appareil a été mis sous une tension de 7,4 volts/cm.

— **Fractionnement des composés humiques.**

Les constatations suivantes ont été faites :

1° La totalité des acides humiques déposés est éluée et récupérée dans les tubes collecteurs ; il n'y a ni fixation, ni précipitation sur la feuille. A la fin de l'expérience, celle-ci est absolument nettoyée.

2° La migration sous l'action du champ électrique n'est pas la même que celle observée sur papier cellulose. **On constate en effet une migration à la fois vers l'anode et vers la cathode.** La figure n° 1 représente pour les acides humiques du mor la teneur en carbone de chaque fraction séparée par rapport au carbone total de l'ensemble des fractions ; sur ce graphique, le tube n° 0 correspond au niveau auquel la dépose des composés humiques initiaux a été effectuée. (Dans la suite de ce travail, nous maintenons ce même type de représentation des résultats obtenus.) La figure n° 1 concerne la séparation obtenue pour les composés humiques du mor en présence du tampon au phosphate. Les mêmes observations ont été faites en présence du tampon au véronal. Par ailleurs, les acides humiques du mull calcique, en présence des deux types de tampon ont le même comportement. Ceci est également explicité dans la figure n° 2.

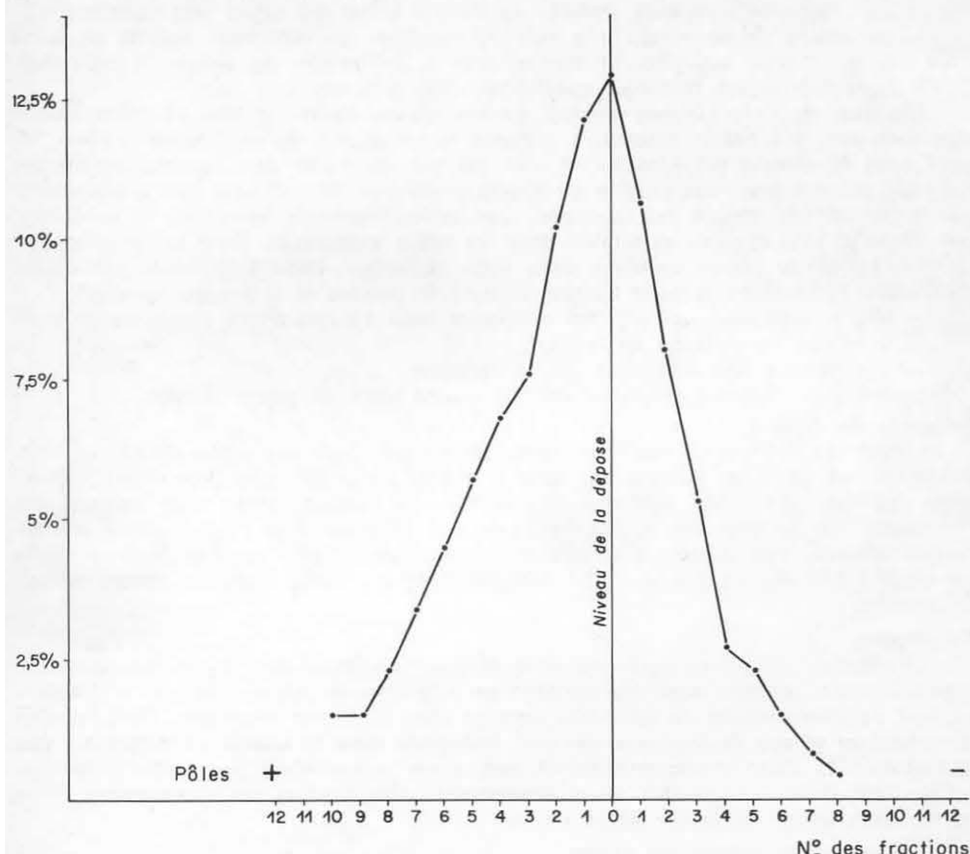


Figure 1. — *Répartition du carbone dans les différentes fractions. Mor de A° de Podzol humo-ferrugineux.*

Coloration des fractions.

Sur la figure n° 2 sont représentées les couleurs des fractions obtenues avec les deux types de matière organique et avec chacun des tampons indiqués ci-dessus. On constate les faits suivants :

1° L'étalement des fractions est plus grand dans le cas de la solution tamponnée au véronal que dans celle au phosphate. L'ensemble des fractions est dans le premier cas davantage déporté vers la cathode que dans le second.

2° Dans les deux types de matière organique, les fractions qui sont restées au niveau de la dépose, c'est-à-dire celles qui, sous l'action du champ électrique, sont immobiles, ont une coloration foncée, identique à la coloration des fractions immobiles séparées sur papier cellulose.

De part et d'autre de ce groupe immobile dans le champ électrique, les fractions mobiles passent progressivement aussi bien vers la cathode que vers l'anode, à une coloration jaune pour le mor et jaune-rouge pour le mull calcique.

3° Comme sur papier cellulose, on observe à la lumière de Wood, une fluorescence intense dans les fractions très mobiles vers l'anode en présence du tampon au phosphate. Avec celui au véronal, par contre, la fluorescence est observée dans les fractions très mobiles aussi bien vers l'anode que vers la cathode. Ces remarques sont valables pour les deux types de sol.

Mor de A° de Podzol humo-ferrugineux		Mull calcique de Sol brun calcaire	
Tampon au véronal pH 7,4	Tampon NaH_2PO_4 - NaOH pH 7,4	Tampon au véronal pH 7,4	Tampon NaH_2PO_4 - NaOH pH 7,4

Figure 2. — *Coloration et précipitation des composés humiques dans les différentes fractions.*

Propriétés optiques des fractions séparées.

La figure n° 3 représente le coefficient d'adsorption optique (Q 4/6) pour chaque fraction séparée. C'est le rapport des densités optiques enregistrées aux longueurs d'onde de 470 et de 610 μ. Pour chaque échantillon, ce rapport a été déterminé sur quatres concentrations différentes. Celles-ci ont été choisies de telle sorte que la densité optique obtenue à la longueur d'onde de 470 μ, soit échelonnée entre 0,80 et 0,30. Dans la détermination du coefficient d'adsorption, nous avons alors pris la

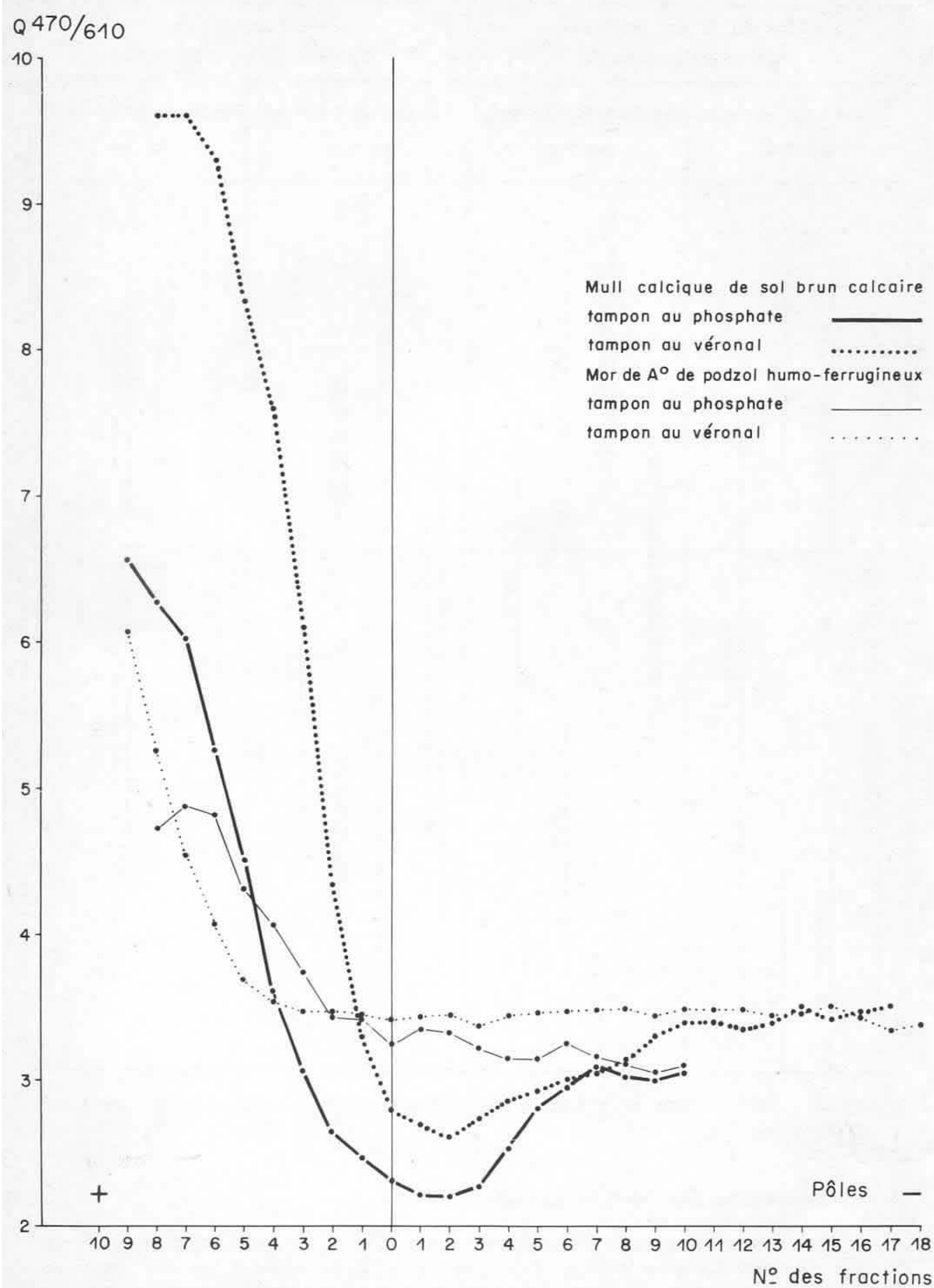


Figure 3. — *Valeurs du coefficient d'adsorption* (Q 4/6) *des composés humiques des différentes fractions.*

moyenne entre ces quatre valeurs. Les résultats obtenus pour le mull calcique et le mor ne sont pas identiques.

Le mull calcique du sol brun calcaire.

1° Compte tenu de l'étalement plus grand des fractions avec le tampon au véronal qu'avec celui au phosphate, une similitude des courbes est obtenue, avec les deux types de tampons.

2° Trois groupes de fractions ont été séparés :

a) Un premier groupe est resté au niveau de la dépose. Ses constituants sont immobiles dans le champ électrique et leur coefficient d'adsorption est très bas : inférieur à 3 ; ce sont de grosses molécules.

b) Le groupe qui se déplace vers l'anode a un Q 4/6 croissant du niveau de la dépose vers l'anode. Ces composés à charges négatives, à petites molécules sont particulièrement bien séparés avec le tampon au véronal puisque le coefficient d'adsorption atteint des valeurs supérieures à 9, ce qui est exceptionnel.

L'obtention de ces deux premiers groupes est conforme aux données obtenues par les auteurs par l'électrophorèse classique sur papier cellulose : les fractions d'acides humiques polymérisés à Q 4/6 bas ne migrent pas, les molécules plus petites à Q 4/6 élevé migrent vers l'anode.

c) Le troisième groupe contient les fractions mobiles vers la cathode. Comme nous l'avons déjà indiqué, la migration vers ce pôle des composés humiques n'est pas observée sur papier cellulose. Or, on constate ici que cette fraction correspond à des molécules dont le coefficient d'adsorption est relativement bas : entre 3 et 4.

Le mor de podzol humo-ferrugineux.

Le comportement de ce type de matière organique est partiellement différent de celui du mull calcique.

Les fractions mobiles vers l'anode sont également observées. Ici aussi, les valeurs du Q 4/6 sont élevées, en particulier en présence du tampon au véronal. Les fractions mobiles vers la cathode ont des valeurs de coefficient d'adsorption semblables à celles obtenues avec le mull calcique : 3,5 en présence du tampon au véronal, de l'ordre de 3 en présence de celui au phosphate.

Enfin, les fractions immobiles ont dans ce type de matière organique des valeurs de Q 4/6 plus élevées (3 à 3,5) que dans le mull. Les composés humiques sont ici moins polymérisés, ce qui est conforme aux types génétiques de ces deux matières organiques.

Précipitation des acides humiques.

A chaque fraction obtenue dissoute dans le tampon a été ajouté de l'acide chlorhydrique concentré afin de ramener le pH à 1. Comme le montre la figure n° 2, la totalité des acides humiques n'est plus précipitable après fractionnement. On constate, en effet, les faits suivants :

1° Les fractions de couleur foncée immobiles et à Q 4/6 bas sont encore précipitables en présence de chacun des deux types de tampon.

2° Les fractions les plus mobiles vers l'anode ne sont plus précipitées, en particulier celles qui présentent à la lumière de Wood une fluorescence bien marquée. Elles sont faiblement polymérisées.

3° En présence du tampon au Véronal, les fractions mobiles vers la cathode sont presque toutes précipitées, y compris les fractions fluorescentes à la lumière de Wood. En présence du tampon au phosphate, cela n'est pas le cas : les fractions les plus mobiles restent en solution à pH 1.

Comportement des fractions à l'électrophorèse classique (horizontale) sur bandes de papier cellulose.

Chaque fraction obtenue par l'électrophorèse continue sur fibres de verre, après précipitation acide, a été lavée deux fois (HCl N/10, HCl N/200), puis redissoute dans

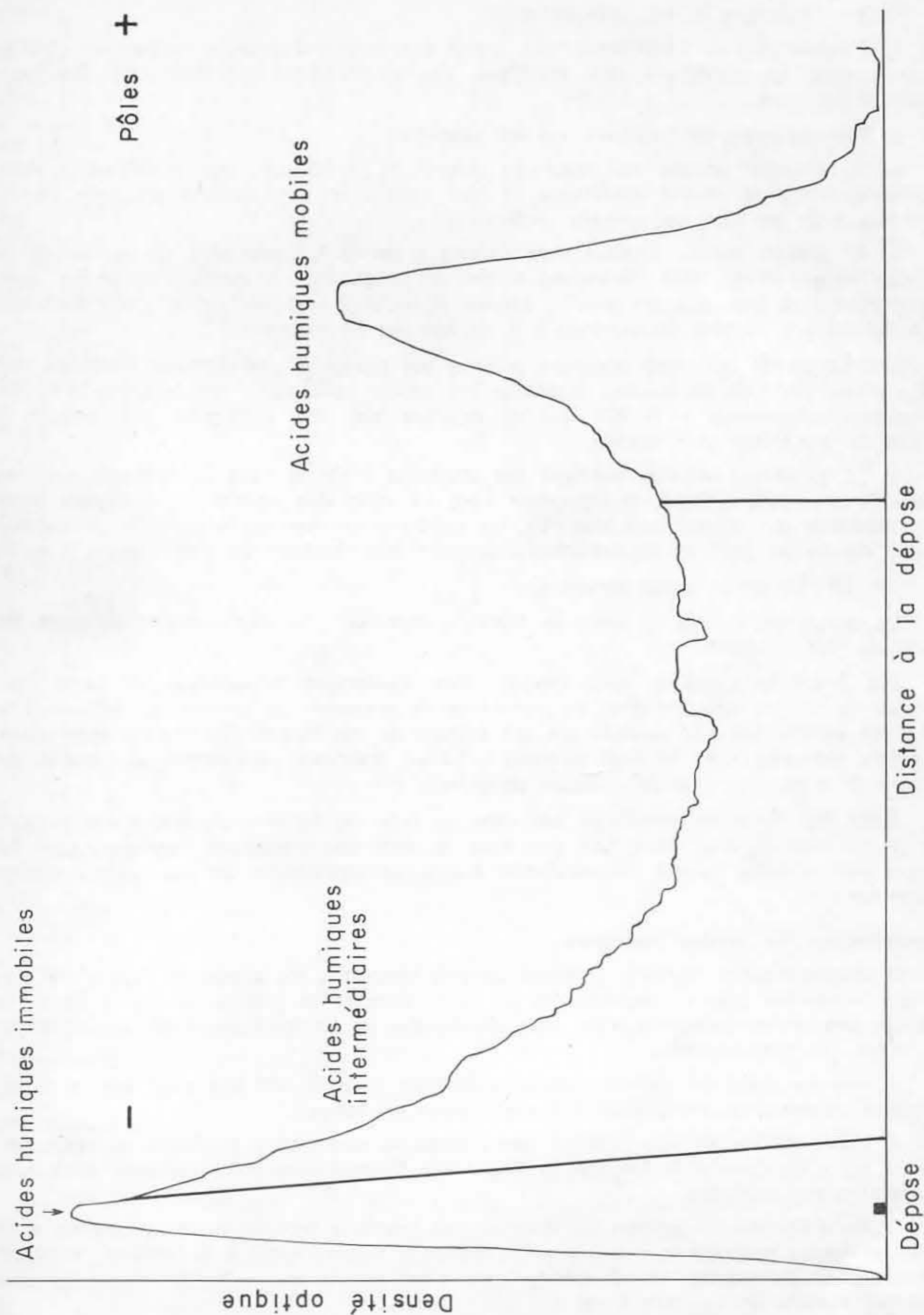


Figure 4. — *Exemple de subdivision des surfaces de l'électrophorégramme obtenu par électrophorèse sur bandes de papier cellulose.*

un minimum de NaOH N/10 et enfin soumise à une électrophorèse classique sur bandes de papier cellulose, pendant quatre heures, sous une tension de 7 volts/cm et en présence du tampon au phosphate. Les électrophorégrammes sont lus par photométrie et les surfaces enregistrées sont divisées en trois fractions : elles correspondent aux acides humiques immobiles, intermédiaires et mobiles, comme le montre un exemple dans la figure n° 4. La proportion des acides humiques mobiles et intermédiaires a été très variable et peu significative. Aussi, pour ne pas alourdir la figure n° 5, n'avons-nous représenté dans celle-ci que le pourcentage des acides humiques immobiles. Ce graphique représente donc pour chaque fraction séparée sur papier fibres de verre, la proportion qui sur papier cellulose reste immobile. Les constatations suivantes sont faites :

1° Compte tenu de l'étalement plus grand et d'un léger décalage des fractions séparées avec le tampon au véronal, par rapport à celles séparées en présence du tampon au phosphate, les courbes obtenues en présence de chacune des deux solutions sont identiques.

2° En considérant l'allure générale des courbes obtenues, on constate que celles correspondant au mor et celles correspondant au mull ont un comportement identique. Il subsiste évidemment une différence fondamentale : sur papier cellulose, les composés humiques du mor sont nettement plus mobiles que ceux du mull ; ceci est conforme aux types génétiques de chacune de ces matières organiques.

3° Les fractions très mobiles sur fibres de verre du côté de la cathode, sont immobiles sur cellulose. Ceci est mis en évidence dans les deux types de matière organique, mais apparaît plus nettement dans le cas du mull calcique.
Les fractions mobiles sur fibres de verre du côté de l'anode sont partiellement immobilisées sur cellulose, surtout dans le cas du mor.

Enfin, les fractions immobiles ou faiblement mobiles sur verre ont, sur cellulose, le maximum de mobilité.

IV. — **DISCUSSION ET CONCLUSIONS.**

Le but du présent travail était d'étudier le comportement des acides humiques à l'électrophorèse continue (ou électrophorèse verticale) sur papier cellulose, puis sur papier fibres de verre. Les résultats sont comparés à ceux obtenus par l'électrophorèse classique, sur bandes de papier cellulose (ou électrophorèse horizontale), technique bien connue et couramment utilisée. Les conclusions auxquelles nous aboutissons sont les suivantes :

1° Sur papier cellulose, le fractionnement par électrophorèse verticale donne des résultats comparables à ceux obtenus à l'électrophorèse horizontale. On distingue en effet :

- une fraction immobile (acides humiques immobiles),
- une fraction mobile vers l'anode (acides humiques mobiles). Celle-ci est précédée d'une frange très mobile et fluorescente à la lumière de Wood.

Les acides humiques intermédiaires n'ont pas été observés nettement lors de l'électrophorèse verticale. Ceci vient du fait que la séparation ne dure ici qu'environ une heure : le temps d'écoulement du haut en bas de la feuille, tandis que sur bandes horizontales elle est généralement exécutée pendant trois à quatre heures.

2° Dans les conditions réalisées ici, il n'a pas été possible d'éluer les acides humiques immobiles en totalité. Il s'agit non d'une précipitation des composés humiques, mais d'une fixation sur le papier et probablement d'une adsorption.

3° Sur papier fibres de verre, l'ensemble des fractions séparées a été élué aisément.

4° Des deux types de tampons utilisés, sur fibres de verre, celui au phosphate et celui au véronal, c'est avec ce dernier que l'étalement des fractions est le plus grand, donc le plus satisfaisant.

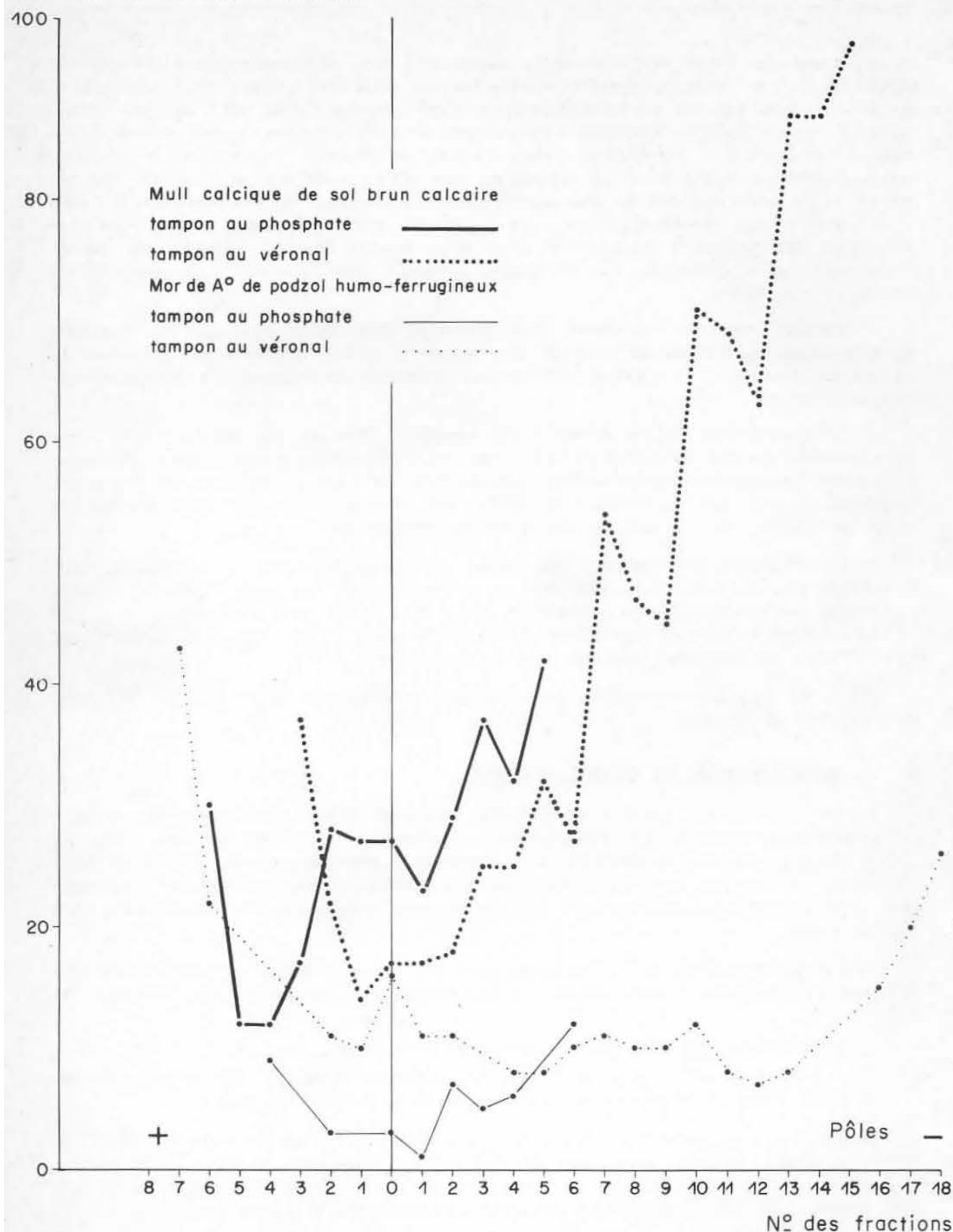


Figure 5. — *Mobilité à l'électrophorèse classique sur bandes de papier cellulose des acides humiques des différentes fractions obtenues par l'électrophorèse continue sur fibres de verre.*

En abscisse : *Numéro des fractions séparées par électrophorèse continue sur papier fibres de verre.*

En ordonnée : *séparation obtenue par électrophorèse classique sur bandes de papier cellulose : acides humiques immobiles en % des acides humiques totaux, c'est-à-dire des acides humiques immobiles + intermédiaires + mobiles.*

5° Sur papier verre, on observe une migration à la fois vers l'anode et vers la cathode. **Les fractions mobiles vers l'anode sont comparables aux acides humiques mobiles sur cellulose :** leur quotient d'adsorption lumineuse est en effet élevé et leur couleur à la lumière naturelle est claire. Cependant, on constate que les fractions les plus mobiles, celles qui, à la lumière de Wood sont fluorescentes, contiennent une proportion plus élevée d'acides humiques immobiles sur cellulose. Ceci est particulièrement net dans le cas du mor en présence du tampon au véronal. Il est possible qu'il s'agisse là de complexes de composés très faiblement polymérisés (Q 4/6 très élevé) et de composés minéraux. Il n'est pas exclu que la silice puisse jouer un tel rôle ; celle qui est extraite avec les composés humiques du sol ou celle qui est solubilisée au niveau des fibres de verre.

La migration d'une partie des acides humiques vers la cathode sur papier fibres de verre est surprenante : on ne l'observe, en effet, pas sur cellulose. Or, nous avons pu montrer que les fractions mobiles vers ce pôle ont un Q 4/6 bas : entre 3 et 3,5, et que, par ailleurs, elles sont immobiles sur papier cellulose. **Ils correspondent donc aux acides humiques immobiles sur cellulose.** Leur mobilité vers la cathode sur papier fibres de verre (c'est-à-dire en l'absence de phénomène de fixation sur le rapport) est probablement due à la présence dans le milieu d'ions minéraux tels que l'aluminium, le fer, le calcium, liés étroitement aux acides humiques.

Remarquons enfin qu'en présence du tampon au véronal et dans les deux types de matière organique, les fractions les plus mobiles vers la cathode sur fibres de verre et les plus immobiles sur cellulose, sont fluorescentes à la lumière de Wood. Cette frange fluorescente est à rapprocher de celle observée par COULSON et al. (1959) et par JACQUIN (1961) au niveau de la dépose d'acides humiques lors d'un fractionnement par électrophorèse classique sur bandes de papier cellulose.

6° Sur papier fibres de verre, l'étalement des fractions correspondant au mull est identique à celui qui correspond au mor. Cependant, les caractères physico-chimiques des fractions de chaque type de matière organique ne sont pas semblables : en particulier les fractions qui migrent du côté de la cathode sont dans le cas du mull moins mobiles que dans le cas du mor. Ces données sont conformes à ce que l'on connaît de chacun de ces deux types de matière organique.

En définitive, comme l'a déjà signalé JUSTE (1967) à propos de l'électrophorèse sur papier cellulose, il semble que, dans ces faits observés, un rôle important soit joué par des complexes organo-minéraux suffisamment stables pour ne pas être dissociés par la tension au cours de l'électrophorèse. Par ailleurs, nous n'excluons pas l'hypothèse d'une dissolution de silice au niveau des fibres de verre, qui serait également capable de former de telles combinaisons.

Ces problèmes n'ont pas été abordés dans ce travail, mais c'est probablement là qu'il faut chercher l'explication des faits qui ont été observés ici.

Reçu pour publication le 29 mars 1968.

SUMMARY

FRACTIONATION OF THE HUMIC ACIDS OF THE SOIL BY MEANS OF COUTINUOUS ELECTROPHORESIS ON GLASS-FIBER PAPER

The humic acids of a mor from an iron-humus podzol and of a mull from a brown calcareous soil were submitted to flow-electrophoresis on cellulose — paper and on glass — fiber paper.

On cellulose — paper the migration of the humic compounds permits the separation of the « mobile humic acids » from the « non-mobile humic acids ». The former were easily eluated ; of the latter, a part was not eluable and remained fixed on the cellulose - paper. It is not a matter of precipitation, but, very likely, of adsorption.

On glass-fiber paper, the whole of the fractions were easily eluated. But on this type of supporting medium one can observe at one and the same time, a migration towards the anode and another migration towards the cathode.

Every one of the fractions which were separated on glass-fiber paper is characterized by, its colour, its light — adsorption coefficient and its mobility during standard electrophoresis on cellulose — paper strips. One can observe the following facts : the fractions, which on the glass — fibers move towards the anode, are comparable to the « mobile humic acids » on cellulose ; the fractions, which on glass move towards the cathode, are comparable to the « non - mobile humic acids » on cellulose.

Bibliographie

AUDUBERT R., DE MENDE S., 1957. — Les principes de l'électrophorèse. Presses Universitaires de France, 108, boulevard Saint-Germain, Paris-VI[e].

COULSON C.B., DAVIES R.I., KHAN E.J.A., 1959. — Humic acid investigations. II. Studies on the fractionation of humic acids. J. Soil Sci. vol. 10, n° 2, sept., pp. 271-283.

DUCHAUFOUR Ph., JACQUIN F., 1966. — Nouvelles recherches sur l'extraction et le fractionnement des composés humiques. Bull. Ec. Nation. Sup. Agron. Nancy. Tome VIII, Fascicule 1, pp. 3-24.

JUSTE C., DELAS J., 1967. — Influence de l'addition d'aluminium, de fer, de calcium, de magnésium ou de cuivre sur la mobilité électrophorétique, le spectre d'absorption infrarouge et la solubilité d'un composé humique. Ann. Agron. 18 (4), 403-427.

JACQUIN F., 1961. — Contribution à l'étude d'humus naturels par électrophorèse sur papier. Bull. Ec. Nation. sup. Agron. Nancy. Tome III, fascicule II.

JOHNSTON H.N., 1959. — Soil organic matter : I. Electrophoretic separation of acid-resistant components. Soil sci. Soc. Ameri Proc. 23, pp. 293-295.

LEDERER E., 1959. — Chromatographie en chimie organique et biologique, II, vol. 1, pp. 184-188. Masson et Cie, éditeurs, 120, boulevard Saint-Germain, Paris-VI[e].

MÜCKE D., NOACK R., OBENAUS R., 1960. — Elektrophoretische Untersuchungen an der von Cephalosporium gordini gebildeten Huminsäure. Acta biol. med. german. Band 4, pp. 413-422.

POSPISIL F., 1961. — Einige physikalisch-chemische Eigenschaften der Humusstoffe. Studies about Humus Symposion Humus and Plant, Praha and Brno 28. IX-6. X. 1961, pp. 209-222, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, 1962.

SCHEFFER F., ZIECHMANN W., SCHLUTER H., 1959. — Uber Huminsäuren aus Polyoxybenzolen 4. Mitteilung. Pflanzenernähr, Düngung, Bodenkde. Band 85, Heft 1, pp. 32-43.

TIELE H., KETTNER H., 1953. — Uber Huminsäuren. Kolloid Z. Band 130, Januar-März pp. 131-160.